

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



Revised PCT MAY 2005

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Mai 2004 (21.05.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/042058 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12Q 1/68**, (74) Anwalt: **BAUMBACH, Fritz**; Robert-Rössle-Strasse 10, 13125 Berlin (DE).
C12N 15/10
- (21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/DE2003/003728** (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum:
10. November 2003 (10.11.2003)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
102 52 545.5 8. November 2002 (08.11.2002) DE
102 53 351.2 14. November 2002 (14.11.2002) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **INVITEK GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNIK & BIODESIGN MBH** [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, 13125 Berlin (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **HILLEBRAND, Timo** [DE/DE]; Bogenstrasse 29, 15366 Hönnow (DE).
BENDZKO, Peter [DE/DE]; Ifflandstrasse 32, 12623 Berlin (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO Patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: **NOVEL BUFFER FORMULATIONS FOR ISOLATING, PURIFYING AND RECOVERING LONG-CHAIN AND SHORT-CHAIN NUCLEIC ACIDS**

(54) Bezeichnung: **NEUARTIGE PUFFERFORMULIERUNGEN ZUR ISOLIERUNG, REINIGUNG UND RÜCKGEWINNUNG LANG- UND KURZKETTIGER NUKLEINSÄUREN**

(57) Abstract: The invention relates to novel formulations of buffers used for isolating, purifying and recovering long-chain and short-chain nucleic acids. The areas of application of the inventive method include all laboratories engaged in isolating nucleic acids, such as laboratories used in forensic medicine, food diagnosis, medical diagnosis, molecular biology, biochemistry, genetic engineering and all other related fields. The inventive method is characterized in that the solution containing the nucleic acid is prepared with additives whereby containing monovalent and multivalent cations as well as an alcohol and, optionally, additional additives. The solution is subsequently brought into contact with the solid phase, whereupon the support is optionally washed, and the nucleic acid is removed from the solid phase or the solution optionally contains multivalent and/or monovalent cations, optionally one alcohol, and optionally contains additional additives, and a specific pH value is set between 7 and 10. Ammonium chloride, sodium chloride and/or potassium chloride are used as monovalent salt components. Magnesium chloride, calcium chloride, zinc chloride and/or manganese chloride are used as multivalent salt components. A particularly preferred variant involves the use of identical molar amounts of sodium chloride and manganese chloride.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft neuartige Formulierungen von Puffern zur Isolierung, Reinigung und Rückgewinnung von lang- und kurzkettigen Nukleinsäuren. Die Anwendungsgebiete des Verfahrens sind alle mit Nukleinsäure-Isolierungen sich beschäftigenden Laboratorien, wie forensische Medizin, Lebensmitteldiagnostik, medizinische Diagnostik, Molekularbiologie, Biochemie, Gentechnik und alle anderen angrenzenden Gebiete. Das erfindungsgemässe Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass man die Nukleinsäure enthaltende Lösung mit Zusätzen so einstellt, dass sie monovalente und multivalente Kationen sowie einen Alkohol und ggf. weitere Zusätze enthält, sie danach mit der festen Phase in Kontakt bringt, den Träger anschliessend ggf. wäscht und die Nukleinsäure von der festen Phase löst oder dass sie multivalente und/oder monovalente Kationen, ggf einen Alkohol und ggf. weitere Zusätze enthält und ein bestimmter pH-Wert zwischen 7 und 10 eingestellt wird. Als monovalente Salzkomponente wird Ammoniumchlorid, Natriumchlorid und/oder Kaliumchlorid verwendet. Als multivalente Salzkomponente wird Magnesiumchlorid, Calciumchlorid, Zinkchlorid und/oder Manganchlorid, verwendet. Eine besonders bevorzugte Variante ist der Einsatz gleicher molarer Mengen von Natriumchlorid und Magnesiumchlorid.

WO 2004/042058 A3



(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 19. August 2004

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.*

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PT/DE 03/03728

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12Q1/68 C12N15/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 580 305 A (ADVANCED GENETIC TECH) 26 January 1994 (1994-01-26) claims 1-23; examples 1,4-8,11 column 1, line 53 - column 2, line 35 column 5, line 16 - column 7, line 35	1-33
X	LAHIRI D K ET AL: "DNA ISOLATION BY A RAPID METHOD FROM HUMAN BLOOD SAMPLES: EFFECT OF MGCL ₂ , EDTA, STORAGE TIME, AND TEMPERATURE ON DNA YIELD AND QUALITY" BIOCHEMICAL GENETICS, PLENUM PRESS CO., LONDON, GB, vol. 31, no. 7/8, August 1993 (1993-08), pages 321-328, XP009007516 ISSN: 0006-2928 page 322 - page 323; figure 1 page 327	1-33

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 June 2004

Date of mailing of the international search report

25/06/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

van Klompenburg, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
1/DE 03/03728

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/19980 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT ; REINHARDT RICHARD (DE); NORDHOFF ECKARD (DE)) 22 March 2001 (2001-03-22) page 9, lines 14-19 page 10, line 25 - page 11, line 5 -----	1-33
X	WO 02/04620 A (COSAERT SARAH ; QIAGEN GMBH (DE); SINGER THORSTEN (DE); WEBER MARTIN ()) 17 January 2002 (2002-01-17) cited in the application claims 1-11; examples 1-7 -----	1-33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

DE 03/03728

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0580305	A	26-01-1994	AT 184879 T	15-10-1999
			DE 69326507 D1	28-10-1999
			DE 69326507 T2	27-04-2000
			EP 0580305 A2	26-01-1994
			JP 6078769 A	22-03-1994
WO 0119980	A	22-03-2001	DE 19943374 A1	29-03-2001
			WO 0119980 A1	22-03-2001
			EP 1214406 A1	19-06-2002
WO 0204620	A	17-01-2002	DE 10033991 A1	24-01-2002
			WO 0204620 A2	17-01-2002
			EP 1299531 A2	09-04-2003
			JP 2004502458 T	29-01-2004
			US 2004091875 A1	13-05-2004

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 03/03728

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12Q1/68 C12N15/10

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 580 305 A (ADVANCED GENETIC TECH) 26. Januar 1994 (1994-01-26) Ansprüche 1-23; Beispiele 1,4-8,11 Spalte 1, Zeile 53 - Spalte 2, Zeile 35 Spalte 5, Zeile 16 - Spalte 7, Zeile 35	1-33
X	LAHIRI D K ET AL: "DNA ISOLATION BY A RAPID METHOD FROM HUMAN BLOOD SAMPLES: EFFECT OF MGCL2, EDTA, STORAGE TIME, AND TEMPERATURE ON DNA YIELD AND QUALITY" BIOCHEMICAL GENETICS, PLENUM PRESS CO., LONDON, GB, Bd. 31, Nr. 7/8, August 1993 (1993-08), Seiten 321-328, XP009007516 ISSN: 0006-2928 Seite 322 - Seite 323; Abbildung 1 Seite 327	1-33

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Juni 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

25/06/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

van Klompenburg, W

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

ST/DE 03/03728

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 01/19980 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT ; REINHARDT RICHARD (DE); NORDHOFF ECKARD (DE)) 22. März 2001 (2001-03-22) Seite 9, Zeilen 14-19 Seite 10, Zeile 25 - Seite 11, Zeile 5 -----	1-33
X	WO 02/04620 A (COSAERT SARAH ; QIAGEN GMBH (DE); SINGER THORSTEN (DE); WEBER MARTIN () 17. Januar 2002 (2002-01-17) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 1-11; Beispiele 1-7 -----	1-33

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

T/DE 03/03728

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0580305	A	26-01-1994	AT 184879 T	15-10-1999
			DE 69326507 D1	28-10-1999
			DE 69326507 T2	27-04-2000
			EP 0580305 A2	26-01-1994
			JP 6078769 A	22-03-1994
WO 0119980	A	22-03-2001	DE 19943374 A1	29-03-2001
			WO 0119980 A1	22-03-2001
			EP 1214406 A1	19-06-2002
WO 0204620	A	17-01-2002	DE 10033991 A1	24-01-2002
			WO 0204620 A2	17-01-2002
			EP 1299531 A2	09-04-2003
			JP 2004502458 T	29-01-2004
			US 2004091875 A1	13-05-2004